LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR ROAD
PALO ALTO, CALIFORNIA

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153708_0001

Lane Medical Library

Aus dem chemischen Laboratorium (Priv.-Doz. Dr. W. Schuler)
der Medizinischen Klinik Erlangen (Direktor: Prof. Dr. L. R. Müller).

1935

Eine Mikromethode zur Bestimmung der Purine und Nucleoside im Serum.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexanders-Universität Erlangen

vorgelegt von

Agnes Lehmer
aus Garmisch.

Tag der mündlichen Prüfung:

1935
Buchdruckerei Karl Döres, Erlangen, Jägerstraße 3.

1935/422

Referent: Priv.-Doz. Dr. W. Schuler.

Dekan: Geheimrat Prof. Dr. F. Jamin.

Inhaltsangabe.

A. Einleitung 5
B. Besonderer Teil 7
1. Bestimmung eingewogener Purinmengen 7
2. Versuche zur Ermittlung der Art des Puffers 7
3. Bestimmung im Serum und in Serum mit zugesetzten Purinen 8
4. Verhalten von Methylpurinen 8
5. Vergleich mit der chemischen Purinbestimmung nach Thannhauser und Czoniczer 8
6. Ermittlung des Puringehaltes in verschiedenen Sera mit Pankreas 9
C. Versuchsteil 9
D. Zusammenfassung 13
E. Literatur 15

A. Einleitung.

Die chemische Erforschung der sogenannten Nucleoproteide, des Hauptbestandteils der Zellkernsubstanzen, ist in den letzten Jahren ziemlich weit fortgeschritten. Man weiß, daß die charakteristische Komponente eines Nucleoproteids ein Komplex von Nucleinsäuren ist, der an Eiweiß gebunden als Aufbausubstanz für die Zellkerne in Frage kommt. Der charakteristischste Bestandteil einer einfachen Nucleinsäure oder eines Mononucleotids ist der Purin- oder Pyrimidinring, der in der Anordnung Purin- bzw. Pyrimidin - Zucker - Phosphorsäure mit den beiden letztgenannten Komponenten verbunden ist. Nach Abspaltung von Phosphorsäure aus einem Mononucleotid entsteht eine Purin-Zuckerverbindung, ein Nucleosid. Im Organismus wird diese Spaltung durch ein Ferment betätigt, das man als Nucleotidase bezeichnet hat. Nach Aufspaltung der Purin-Zuckerbindung des Nucleosids erhält man das freie Purin, ein Prozeß, der im Organismus unter der Wirkung einer Nucleosidase vor sich geht.

Die freien, sich von den Nucleinsäuren ableitenden Purine sind: Hypoxanthin (6-Oxypurin), Xanthin (3-6-Oxypurin), Guanin (3-amino-6-Oxypurin), Adenin (6-Aminopurin). Adenin als solches dürfte im Organismus nicht oder nur in sehr geringer Menge vorkommen, weil Adenylsäure, das zu Adenin gehörige Nucleotid und Adenosin, das entsprechende Nucleosid, vor ihrer Spaltung durch eine Desamidase desaminiert werden, so daß als Spaltprodukt der Adenylsäure das über Inosinsäure bzw. Inosin entstehende Hypoxanthin in Frage kommt. Ueberdies hat man bei künstlicher Zuführung von Adenin in den Organismus eine toxische Wirkung dieses Purins beobachtet. Die freien Purine werden beim Menschen und Säugetier durch Purinoxydasen zu Harnsäure oxydiert und beim Menschen als solche ausgeschieden. Im Säugerorganismus erfolgt ein weiterer Abbau der Harnsäure zu Allantoin, so daß beim Säugetier das Allantoin als Endprodukt des Nucleinstoffwechsels auftritt.

Obwohl also über den Nucleinstoffwechsel, besonders über abbauende Vorgänge ziemlich viele Ergebnisse vorliegen, ist über den Puringehalt des Blutes, abgesehen von dem der Harnsäure, fast nichts in der Literatur zu finden. Mit Sicherheit sind im menschlichen Blute nachgewiesen: Harnsäure, freie Purinbasen, im tierischen Blut auch Allantoin. Ueber das Vorkommen anderer Purinsubstanzen als der Harnsäure im Blute hat zuerst v. Jaksch berichtet, der bei Pneumonie, Nephritis, Anämie die Anwesenheit von Hypoxanthin feststellte (1). Außerdem liegen Arbeiten über die vasomotorische Wirkung der im Blute vorkommenden Adenylsäure vor (2). Die Tatsache, daß über den Puringehalt des Blutes so wenig bekannt ist, dürfte wohl darauf zurückzuführen sein, daß bis jetzt noch keine ganz zuverlässige Bestimmungsmethode für freie und gebundene Purine existiert. Neben zuverlässigen Harnsäurebestimmungsmethoden ist in den letzten Jahren eine Bestimmungsmethode für freie und gebundene Purine im Serum von S. J. Thannhauser und Czonniczer ausgearbeitet worden (3). Die Zuverlässigkeit dieser Methode soll im besonderen Teil näher erörtert werden. Ein Nachteil dieser Methode besteht darin, daß sie fast 100 ccm Blut erfordert, was sie für Serienversuche vollkommen ungeeignet macht. In neuerer Zeit veröffentlichte G. Schmidt eine Mikromethode zur Bestimmung von Guanin (4) und später zur Bestimmung von Adenin und der Oxypurine (5) in Geweben. Die Methode beruht auf einer Abspaltung der freien Purine aus Nucleinsäuren mit verdünnter Schwefelsäure, Fällung der Aminopurine mit Silberlösung und Bestimmung des mit Hilfe einer Fermentlösung in Freiheit gesetzten Ammoniaks. Zur Bestimmung des Oxypurinstickstoffs ist eine weitere umständliche Fällungsmethode notwendig. Die Methode dürfte daher für klinische Serienbestimmungen ebenfalls nicht in Frage kommen.

Bei der Bearbeitung des Problems der Harnsäuresynthese im Vogelorganismus untersuchten W. Schuler und W. Reindel (6) den Purinoxydasengehalt von verschiedenen Organen der Taube. Die Autoren benützten Lösungen von Purinen in geringer Konzentration und setzten die auf Purinoxydasen zu prüfenden Organe in Form von überlebenden Gewebsschnitten zu den betreffenden Lösungen hinzu. Enthielten die Organe Purinoxydasen, so war nach mehrstündigem Schütteln im Thermostaten bei 40 Grad in der ursprünglichen Purinlösung Harnsäure nachzuweisen. Es stellte sich heraus, daß überlebende Taubenpankreasschnitte am besten fähig sind, Purine in geringer Konzentration quantitativ in Harnsäure zu verwandeln. Taubenpankreasschnitte verwandeln nur freie Purine, außer Adenin, und alle Nucleoside in Harnsäure. Mononucleotide werden nicht verändert.

Mir wurde zur Aufgabe gestellt, zu prüfen, ob sich auf Grund dieser Erfahrungen eine Mikrobestimmungsmethode zur Bestimmung der freien Purine zusammen mit den Nucleosiden im Blut ausarbeiten ließe, die so wenig Blut erfordert, daß sie für Serienversuche geeignet ist.

B. Besonderer Teil.

1. Als Vorversuche, ob die Methode überhaupt als quantitative Purinbestimmung in Frage kommt, wurden zunächst eingewogene Mengen von Purinen ohne Serum mit Taubenpankreasschnitten zu bestimmen versucht. Wir benutzten folgende Versuchsanordnung: das zu bestimmende Purin oder Nucleosid wurde in einer Menge vom 5—10 mg% in Phosphatpufferlösung gelöst. Dazu wurde eine bestimmte in weiteren Versuchen festgelegte Menge überlebender Taubenpankreasschnitte von zirka $^1/_2$ mm Dicke gegeben und 3 Stunden unter Sauerstoffzufuhr im Thermostaten bei 40 Grad geschüttelt. Als Leerversuch wurde dieselbe Menge Pankreas in der gleichen Pufferlösung ohne Zusatz ebenfalls 3 Stunden geschüttelt. In der Lösung wurde danach die entstandene Harnsäuremenge kolorimetrisch bestimmt und nach Abzug der im Leerversuch gefundenen Menge Harnsäure konnte der Wert mit der eingewogenen Purinmenge verglichen werden. Es ergab sich, daß Hypoxanthin, Xanthin und Guanin quantitativ in Harnsäure verwandelt werden. Beim Adenin gelang eine Umwandlung in Harnsäure in keinem Falle. Um eine quantitative Umwandlung in Harnsäure zu erhalten, benötigte man 300 mg Taubenpankreasschnitte für 4 ccm einer 5 mg%igen Purinlösung. Von Nucleosiden wurden in gleicher Weise Adenosin und Guanosin untersucht, welche fast quantitativ in Harnsäure verwandelt wurden. Von Nucleinsäuren wurden Hefeadenylsäure, Muskeladenylsäure und Guanylsäure untersucht. Es zeigte sich, daß Taubenpankreasschnitte nicht imstande sind, Nucleinsäuren zu Harnsäure abzubauen. Das Pankreas der Taube enthält also, wie auch vom Pankreas der Säugetiere bekannt ist, keine Nucleotidasen, sondern nur Nucleosidasen.

2. Nachdem sich durch diese Vorversuche die Methode als brauchbar für die quantitative Bestimmung der freien Purine — außer Adenin — und der Nucleoside erwiesen hatte, konnte an die Erprobung ihrer Anwendbarkeit auf Serum geschritten werden. Da durch Vorversuche nachgewiesen wurde, daß der Gehalt an Purinen und Nucleosiden im Serum ziemlich beträchtlich ist, war es nicht möglich, die Bestimmung mit unverdünntem Serum auszuführen. Bei den Versuchen mit Einwaagen hatte sich Phosphat-

puffer von ph 7,2—7,4 bewährt. Ich verdünnte deshalb zunächst das Serum mit Phosphatpuffer auf das Vierfache, fand jedoch bald, daß sich die vor der kolorimetrischen Harnsäurebestimmung nötige Enteiweißung mit Uranylacetat weder bei Anwendung von Phosphat- noch Citratpuffer durchführen ließ. Als geeignet erwies sich aber Glykokollpufferlösung von ph 7,4, womit alle weiteren Versuche mit Serum durchgeführt wurden.

3. Zur weiteren Prüfung der Zuverlässigkeit der Methode konnten nach Ermittlung des geeigneten Puffers Versuche mit Serum und zugesetzten bekannten Purinmengen durchgeführt werden. Bei diesen Bestimmungen wurden die dem Serum zugesetzten Purine, wie Hypoxanthin, Guanin und Nucleoside, wie Adenosin und Guanosin quantitativ wiedergefunden. Dieses ist ein weiterer Beweis für die Zuverlässigkeit der Bestimmungsmethode.

4. Für die praktische Durchführung der Purinbestimmung im Serum war es von Bedeutung, wie sich die dem Organismus durch den Genuß von Kaffee, Tee und Kakao zugeführten Methylpurine, Coffein und Theobromin, Taubenpankreasschnitten gegenüber verhalten. Wir setzten daher Coffein (1-3-7-Trimethyl—2-6-dioxypurin) und Theobromin (3-7-Dimethyl — 2-6-dioxypurin) in einer Menge von 12 mg% zu Versuchen mit überlebenden Taubenpankreasschnitten zu. Es zeigte sich, daß die Methylpurine in dieser Konzentration eine schwach vergiftende Wirkung ausüben und weniger Harnsäure entsteht als im Leerversuch mit Taubenpankreasschnitten allein. Die geringen eventuell im Serum vorhandenen Mengen von Methylpurinen sind daher ohne Einfluß auf die Bestimmung. Daher brauchen bei der purinfreien Diät vor der Bestimmung des Puringehaltes im Serum Methylpurine enthaltende Getränke nicht berücksichtigt werden.

5. Von Interesse waren ferner Versuche darüber, inwieweit Uebereinstimmung der von mir bearbeiteten physiologischen Purinbestimmungsmethode mit der von Thannhauser und Czoniczer (7) angegebenen chemischen Fällungsmethode mit Natriumbisulfit und Kupfersulfat herrscht. Ich verglich die Werte, die ich nach meiner Methode und nach der Fällungsmethode zunächst bei eingewogenen Mengen erhielt. Außerdem führte ich beide Bestimmungsmethoden mit gleichem Serum durch. Bei eingewogenen Mengen von Hypoxanthin und Xanthin fand sich mit Taubenpankreasschnitten die eingewogene Menge wieder, während mit der Fällungsmethode zirka 25% zu wenig gefunden wurde. Bei Zusatz von Alanin oder Ammoniumcarbonat in einer Konzentration von 60 mg% fanden sich etwas höhere Werte, jedoch waren sie noch fast 20% zu tief, ein Beweis dafür, daß Ammoniumsalze und

Aminosäuren das Resultat bei der Fällungsmethode beeinflussen. Bei der Anwendung der Fällungsmethode auf eine Guaninlösung von 5 mg% Guanin wurde die theoretische Menge an Stickstoff gefunden. Es scheinen daher nur Oxypurine nicht quantitativ in der Kupferfällung enthalten zu sein. Im Serum konnten keine übereinstimmenden Werte mit beiden Methoden erhalten werden. In zwei Fällen waren die nach der Fällungsmethode erhaltenen Resultate ähnlich wie oben zirka 25% niedriger als die mit Pankreasschnitten erhaltenen.

6. Bei der praktischen Durchführung der Methode mit Sera verschiedener Patienten wurden immer Parallelversuche durchgeführt. Es zeigte sich in den Vollversuchen meist Uebereinstimmung der Werte, in seltenen Fällen Abweichungen bis zu 5%. Um sicher zu gehen, daß bei dreistündigem Schütteln des mit Glykokollpuffer verdünnten Serums im Thermostaten keine Veränderung des Harnsäuregehaltes eintritt, wurde die Harnsäurebestimmung nicht nur mit unbehandeltem, sondern auch mit 3 Stunden im Thermostaten geschütteltem, und mit Glykokollpuffer verdünntem Serum durchgeführt. Es zeigte sich in keinem Falle ein Unterschied der Harnsäurewerte. Auch Versuche mit gleichem Serum und verschiedenem Taubenpankreas gaben dieselben Ergebnisse.

Weiteren Untersuchungen wird es vorbehalten sein, die Normalwerte der Purine und Nucleoside nach einer festgesetzten purinfreien Kost zu ermitteln. Von Interesse ist außerdem eine Ermittlung der möglichen Veränderung des Puringehaltes bei verschiedenen Erkrankungen, die durch eine Veränderung im Ablauf der Nucleinstoffwechselvorgänge bedingt sind.

C. Versuchsteil.

1. Bestimmung eingewogener Purinmengen.

4 ccm einer gepufferten Purinlösung (siehe Tabelle) bestimmten Gehalts wurden mit 300 mg überlebenden Taubenpankreasschnitten in einem Glasschliffkölbchen 3 Stunden lang im Thermostaten unter Sauerstoff bei 40 Grad geschüttelt. Die Pankreasschnitte werden aus dem frei präparierten Pankreas einer frisch getöteten jungen Taube (nicht über $^1/_2$ Jahr alt) mit einem Rasiermesser hergestellt. Die Dicke darf nicht mehr als $^1/_2$ mm betragen; die Wägung geschieht mit Hilfe einer auf mg geeichten Torsionswaage durch Aufhängen an einem kleinen Haken aus Kupferdraht. Hierauf müssen die Schnitte in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und mit Hilfe einer Pinzette in die schon vorher mit der zu untersuchenden Lösung beschickten Kölbchen gebracht werden.

Nach dreistündigem Schütteln werden 2 ccm der Lösung herauspipettiert, mit 7,5 ccm aq. dest. und 0,5 ccm 1,55% iger Uranylacetatlösung nach Neubauer enteiweißt und nach einer halben Stunde filtriert. 4 ccm des Filtrats werden mit 1,8 ccm gesättigter Sodalösung und 0,2 ccm Phosphorwolframsäure nach Folin-Wu versetzt und nach 6 Minuten wird die Stärke der Blaufärbung im Zeiß'schen Stufenphotometer mit Filter S 57 gemessen. Nach Umrechnung des Trommelwertes mit Hilfe einer Tabelle in Harnsäure und Multiplikation mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor erhält man den der Purinmenge entsprechenden Harnsäurewert der zu untersuchenden Lösungen (einschließlich Harnsäure im Serum).

Tabelle I.

Substanz	Lösungsmittel	ph	Harnsäurewert in mg% abzügl. Leerversuch.	Theoret. Wert.
0,4 mg Guanylsäure	4 ccm Phosphatpuffer	7,4	—	4,3
0,4 „ Muskeladenylsäure	4 „ „	7,4	—	4,5
0,4 „ Hefeadenylsäure	4 „ „	7,4	—	4,5
0,2 „ Adenosin	4 „ „	7,4	2,5	2,9
0,2 „ Adenosin	4 „ „	7,4	2,5	2,9
0,2 „ Guanin	4 „ Glykokollpuffer	7,4	5,3	5,5
0,2 „ Guanin	4 „ „	7,4	5,1	5,5
0,2 „ Adenin	4 „ „	7,4	—	6,2
0,2 „ Adenin	4 „ „	7,4	—	6,2
0,8 „ Xanthin + 0,8 „ Hypoxanthin	5 „ Phosphatpuffer	7,4	3,7	3,8
0,2 „ Hypoxanthin	4 „ Glykokollpuffer	7,4	6,3	6,2

2. Versuche mit Serum und zugesetzten Purinen zugleich zur Ermittlung des zweckmäßigsten Puffers.

Es wurden zunächst Versuche mit Serum, welches mit Phosphatpuffer verdünnt war, durchgeführt. Bei der Enteiweißung nach Neubauer mit Uranylacetat war kein klares Filtrat zu erhalten, auch nicht nach Erhitzen der Lösung, so daß die kolorimetrische Bestimmung nicht durchgeführt werden konnte. Bei Anwendung von Citratpuffer wurde das Eiweiß überhaupt nicht ausgeflockt. Erst bei Verwendung von Glykokollpuffer wurde ein farbloses klares Filtrat erhalten. Alle Serumversuche enthalten auf 1 ccm Serum 3 ccm Glykokollpuffer ph 7,4. Bei Zusatzversuchen ist eine bestimmte Menge Purin oder Nucleosid in der Pufferlösung enthalten.

Tabelle II.

Substanz in mg%.	Purin-u.Harnsäurewert in mg% Ū.	Berechnete Menge Ū bei den Versuchen mit Zusatz in mg%.
1 ccm Serum 1 0,5 „ „ 1 0,63 mg% Hypoxanthin 3,5 ccm Puffer	1,55	—
1 ccm Serum 2 1 „ „ 2 1,9 mg% Hypoxanthin 3 ccm Puffer	6,2	—
	8,4	8,45
1 ccm Serum 3 1 „ „ 3 1,8 mg% Guanin 3 ccm Puffer	5,9	—
	7,5	7,9
1 ccm Serum 4 1 „ „ 4 1,6 mg% Guanin 3 ccm Puffer	4,3	—
	6,8	6,4
1 ccm Serum 1 0,5 „ „ 1 0,63 mg% Adenosin 3,5 ccm Puffer	1,55	—
	1,25	1,17
1 ccm Serum 5 1 „ „ 5 3,7 mg% Adenosin 3 ccm Puffer	5,3	—
	6,8	7,4
1 ccm Serum 2 1 „ „ 2 3,8 mg% Guanosin 3 ccm Puffer	6,2	—
	8,2	8,2

3. Versuche mit Methylpurinen.

Tabelle III.

Substanz in mg	ccm Lösungsmittel	mg% Ū	Ū.-Wert abzgl. Leervers.	Theoret. Wert in mg% Ū.
∅	4 Glykokoll-puffer ph 7,4	3,5	—	—
0,5 Coffein	4 „ ph 7,4	1,5	∅	11,5
0,5 Theobromin	4 „ ph 7,4	3,6	∅	12,5

4. Vergleich mit der chemischen Purinbestimmung nach Thannhauser und Czoniczer.

a) Xanthin + Hypoxanthin.

8 mg Hypoxanthin + 8 mg Xanthin werden in 200 ccm Citratpuffer ph 7,7 gelöst. 40 ccm Lösung werden auf ca 15 ccm auf dem Wasserbade eingedampft, mit 1 g Natriumacetat, dann in der Siedehitze mit 2 ccm 40%iger Natriumbisulfitlösung und mit 2 ccm 10%iger Kupfersulfatlösung gefällt und die Fällung 4 Minuten lang im Sieden erhalten. Der Niederschlag wird nach dem Erkalten zentrifugiert und 3 mal mit destilliertem Wasser ausgewaschen, quantitativ in ein Kjeldahl-Kölbchen übergeführt und der Stickstoffgehalt bestimmt.

Ergebnis: 40 ccm der obigen Lösung ergaben 4,02 ccm n/70 HCl, was 6,03 mg% Purinharnsäure der obigen Lösung entspricht.

40 ccm Lösung + 10 ccm Uranylacetat wie oben behandelt:
4,0 ccm n/70 HCl = 6,0 mg% Purinharnsäure. Theorie: 9,35 mg% $\bar{U}$.
40 ccm Lösung + 25 mg d-Alanin:
4,50 n/70 HCl = 6,75 mg% Purinharnsäure.
40 ccm Lösung + 25 mg Ammoniumcarbonat:
5,1 n/70 HCl = 7,65 mg% Purinharnsäure.
2 ccm Lösung + 3 ccm Phosphatpuffer ph 7,2 + 300 mg Taubenpankreasschnitte ergeben: 9,25 mg% $\bar{U}$.

b) Guanin.

20 ccm Guaninlösung von 5 mg%-Gehalt in Glykokollpuffer ph 7,4 wie unter a) mit Kupfersulfat gefällt ergeben:

gefunden: 2,25 mg% N.
berechnet: 2,32 mg% N.

c) Serum.

40 ccm Serum 16 + 40 ccm Aqua dest. + 40 ccm 1,55%ige Uranylacetatlösung. Davon 60 ccm Filtrat auf circa 15 ccm eingedampft und wie unter a) mit Kupfersulfat gefällt ergeben:

2,2 ccm n/70 HCl = 6,6 mg% $\bar{U}$ + Purin-$\bar{U}$.
Bestimmung mit Taubenpankreas: 9,8 mg% $\bar{U}$ + Purin-$\bar{U}$.
40 ccm Serum 17 wie oben behandelt:
3,4 ccm n/70 HCl = 10,2 mg% $\bar{U}$ + Purin-$\bar{U}$.
Bestimmung mit Taubenpankreas: 12,5 mg% $\bar{U}$ + Purin-$\bar{U}$.

5. Serienversuche mit Serum.

Tabelle IV.

1 ccm Serum + 3 ccm Glykokollpufferlösung ph 7,4.

Serum Nr.	Harnsäuregehalt des Serums in mg%		Purin + Harnsäurewert abzgl. Pankreasleerversuch in mg% U		Purine + Nucleoside in mg% U	
	sofort bestimmt:	nach 3 Std. Schütteln	Vers. a.	Vers. b.	Vers. a.	Vers. b.
1	3,1	3,0	6,2		3,2	
2	5,3	5,3	24,8	24,8	19,7	19,7
3	3,3	3,4	24,0	23,4	20,8	20,1
4	3,1	3,1	17,2	17,2	14,0	14,3
5	4,7	4,8	21,3	21,3	16,5	16,5
6	2,2	2,5	8,8	8,6	6,5	6,3
7	3,0	3,0	5,4		2,4	
8	4,3	4,3	11,7	11,7	7,4	7,4
9	4,4	4,4	13,2		8,7	
10	2,0	2,7	10,3	10,3	8,0	8,0
11	2,8	2,4	21,5	21,7	18,9	19,2
12	2,7	2,7	8,9	8,9	6,3	6,3
13	3,0	3,0	11,4	11,4	8,4	8,4
14	4,2	4,2	29,8	—	25,6	—
15	4,6	4,6	9,4	9,4	4,8	4,8
16	5,8	5,8	9,8	9,8	4,1	4,1
17	6,5	6,5	12,5	12,5	6,0	6,0
18	4,2	4,2	11,9	11,9	7,8	7,8
19	7,7	7,7	17,1	17,1	9,5	9,5
20	2,4	2,7	11,9	11,9	9,4	9,4
21	2,2	2,1	9,0	—	6,8	—
22	2,9	2,9	10,4	—	7,5	—
23	4,5	4,6	19,0	18,2	14,5	13,7
24	4,6	4,6	11,8	—	7,2	—
25	4,7	4,8	8,6	—	3,8	—
26	6,3	6,3	14,9	—	8,7	—

D. Zusammenfassung.

Es ist möglich, den Gehalt des Serums an freien Purinen — außer Adenin — und Nucleosiden mit überlebenden Taubenpankreasschnitten quantitativ zu bestimmen.

Bewiesen wurde die Zuverlässigkeit der Methode durch richtige Bestimmung eingewogener Mengen von Purinen und Nuc-

leosiden. Auch zu Serum zugesetzte Purinmengen konnten quantitativ wieder gefunden werden.

Etwa im Serum vorhandene Methylpurine haben keinen Einfluß auf das Ergebnis.

Ein Vergleich dieser Methode mit der Fällungsmethode nach Thannhauser und Czoniczer zeigte:

1. Die Fällungsmethode erfordert ca 100 ccm Serum, ist also für Serienversuche nicht geeignet. Die Methode mit Taubenpankreasschnitten erfordert mit Parallelbestimmungen nur 4 ccm Serum. Sie ist daher eine Mikrobestimmung und kann zur Ausführung von Serienversuchen angewandt werden.
2. Bei eingewogenen Mengen von Purinen liefert die Fällungsmethode zu niedrige Werte, außerdem wird das Resultat durch Aminosäuren und Ammoniak beeinflußt. Bei der Mikromethode mit überlebenden Taubenpankreasschnitten werden trotz der viel kleineren Serummenge richtige Resultate erhalten, unabhängig vom Ammoniak — und Aminosäuregehalt des Serums.

Nach Ermittlung des Normalwertes der Purine und Nucleoside im Serum nach purinfreier Diät kann diese Mikromethode vielleicht für die klinische Diagnostik von Bedeutung werden.

Herrn Priv. Doz. Dr. W. Schuler danke ich an dieser Stelle verbindlichst für die Ueberlassung und die wohlwollende Förderung der Arbeit, Herrn Dr. W. Reindel für die freundlichen Ratschläge bei Ausführung der Arbeit.

Der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft möchte ich für die Ueberlassung von Apparaten ebenfalls danken.

E. Literatur.

1. v. Jaksch: Deutsche med. Wschr. 16, 741 (1890).
2. K. A. Bock: Zeitschr. f. ges. exp. Med. 87, 799 (1933).
3. S. I. Thannhauser und Czoniczer: H. S. Zeitschr. physiol. Chem. 110, 305 (1920).
4. G. Schmidt: Hoppe-Seylers Z. 208, 227 (1932).
5. G. Schmidt: Hoppe-Seylers Z. 219, 191 (1933).
6. W. Schuler und W. Reindel: Hoppe Seylers Z. 221, 209 und 232 (1933).

Lebenslauf.

Am 18. September 1907 wurde ich, Agnes Lehmer, in Garmisch als Tochter des Rechnungsrates Josef Lehmer und seiner Ehefrau Anna geb. Straub, geboren. Dort besuchte ich die Volksschule und trat 1920 in das humanistische Gymnasium zu Fürth i. Bay. ein, wo ich 1928 die Reifeprüfung ablegte. Vorklinisch studierte ich von 1928—1930 in Erlangen und Wien und legte 1930 in Erlangen das ärztliche Vorexamen ab. Meine klinischen Semester verbrachte ich in München und Erlangen, wo ich 1933 das ärztliche Staatsexamen bestand. Ich bin reichsdeutsch und römisch-katholischer Konfession.